

学位論文の要約

**Galacto-oligosaccharides ameliorate
dysbiotic *Bifidobacteriaceae* decline in Japanese
patients with type 2 diabetes**

(日本人2型糖尿病患者に対するガラクトオリゴ糖の効果)

Megumi Gonai

郷内 めぐみ

Department of Endocrinology and Metabolism
Yokohama City University Graduate School of Medicine

横浜市立大学 大学院医学研究科 医科学専攻
分子内分泌・糖尿病内科学

(Doctoral Supervisor : Yasuo Terauchi, Professor)

(指導教員 : 寺内 康夫 教授)

学位論文の要約

Galacto-oligosaccharides ameliorate dysbiotic *Bifidobacteriaceae* decline in Japanese patients with type 2 diabetes

(日本人 2 型糖尿病患者に対するガラクトオリゴ糖の効果)

<http://www.wageningenacademic.com/doi/abs/10.3920/BM2016.0230>

【背景】肥満や糖尿病の増加は今や世界的な問題となっているが、最近の研究により腸内細菌叢が宿主の代謝に影響しこれらの発症と深い関わりを持つことが分かってきている。2 型糖尿病患者においては、腸内細菌叢の乱れ (dysbiosis) が血中のリポ多糖 (LPS) を上昇させエンドトキシン血症を引き起こし、耐糖能異常を引き起こす一因となりうるということが分かっている。

Bifidobacteriaceae は *Actinobacteria* 門に属する腸内細菌の一種であり、オリゴ糖を分解して乳酸や酢酸を産生し腸内を酸性にすることで腸内環境を整える。また近年 *Bifidobacteriaceae* はエンドトキシン血症を軽減し耐糖能異常を改善することが複数の研究で報告されている (Griffiths *et al.*, 2004; LE *et al.*, 2014)。この *Bifidobacteriaceae* を増殖させ腸内環境を整えるものとしてプレバイオティクスが挙げられる。プレバイオティクスは「腸管内に存在する一つもしくは複数の限られた腸内細菌の増殖もしくは活動を促すことで宿主に好影響を与え健康を促進する難消化性の食物」であり、かつ「*Bifidobacteriaceae* を増殖させる食物」と定義される (Gibson and Roberfroid, 1995; Gibson *et al.*, 2004)。オリゴ糖は代表的なプレバイオティクスの一つであり、その中でもガラクトオリゴ糖 (galacto-oligosaccharide; GOS) は、*Bifidobacteriaceae* を特異的に増殖させる。

GOS は *Bifidobacteriaceae* を増殖させることで宿主の耐糖能を改善する効果が期待されるが、GOS の 2 型糖尿病患者に対する効果に関する研究は少ない。

【方法】本研究では観察研究、介入研究の 2 つの研究を行った。

①観察研究

健常人 30 名 (control group; CG) と 2 型糖尿病患者 55 名 (DM group; DMG) において、血中 LPS 濃度、LPS 結合蛋白 (LBP) 濃度、血中炎症性マーカー (TNF- α , IL-10, IL-6)、空腹時血糖値 (FPG)、ヘモグロビン A1c 濃度 (HbA1c)、他各種血液生化学指標の測定を行った。さらに便検体を採取し細菌の遺伝子検査による腸内細菌の同定ならびにその代謝産物である短鎖脂肪酸を測定した。なお年齢によって腸内細菌叢は変化することが予め知られており、DMG は CG に比較し有意に高齢であったため、年齢調整を行った 2 型糖尿病患者 40 名 (DMAG) と CG で前述の測定項目の比較を行った。

②介入研究

DMG を、GOS を飲用する群 (GOS 群) とプラセボを飲用する群 (プラセボ群) の 2 群に二重盲検下でランダムに分け、それぞれ 4 週間飲用した後に①と同様の項目を測定し、飲用前後での比較を行った。

【結果】①LBP は CG と比較し DMAG で有意に高値であった (12.4 ± 1.9 vs $8.8 \pm 2.1 \mu\text{g/ml}$, $p < 0.01$)。また本試験の全症例において LPS は検出されなかった。IL-6, IL-10, TNF- α の炎症性マーカーは CG, DMAG 両群で有意差を認めなかった。また *Bifidobacteriaceae* は DMAG で有意に減少していた (11.6 ± 14.0 vs $19.4 \pm 17.4 \%$, $p < 0.05$)。

②GOS 群およびプラセボ群両群において、4 週間の飲用前後で LBP や FPG, HbA1c, 血液生化学指標には有意な変化を認めなかった。しかし GOS 群では *Bifidobacteriaceae* が著明に増加していた (35.2 ± 23.4 vs $12.8 \pm 14.5\%$, $p < 0.01$) (図 1)。

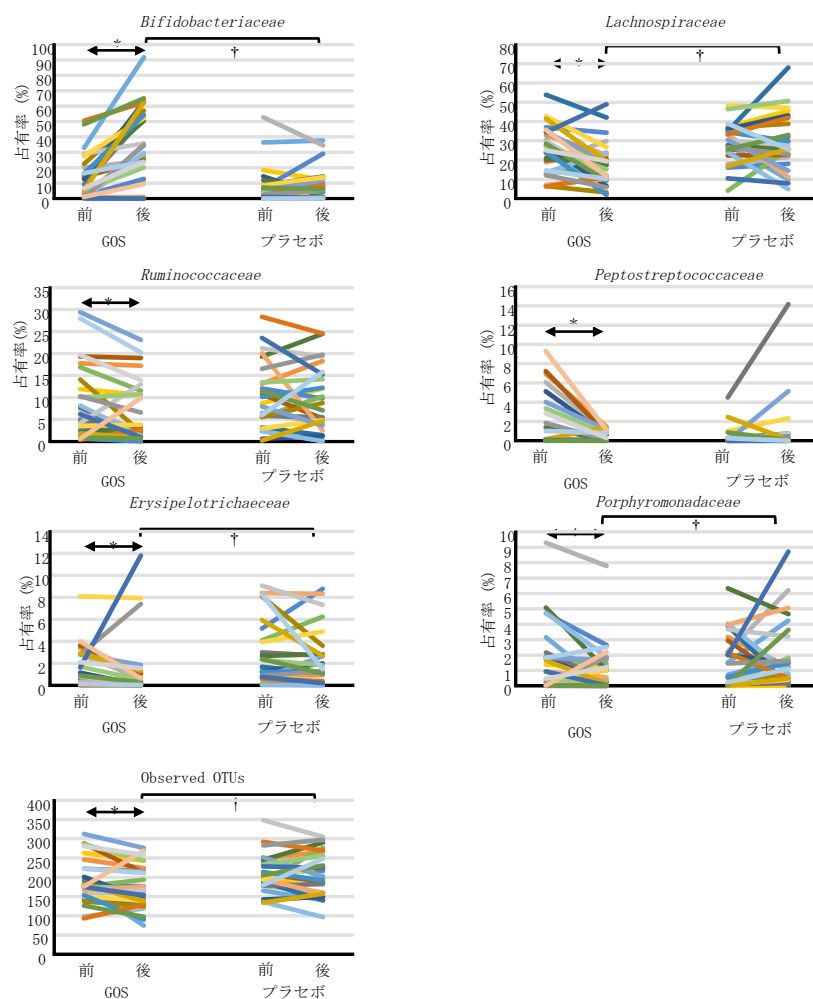


図1 GOS、プラセボ飲用前後で有意差を認めた腸内細菌

* $p < 0.05$ は同じグループ内での飲用前 vs 飲用後における表記であり，Wilcoxon signed-rank test で解析を行った．また† $p < 0.05$ はそれぞれ飲用前，飲用後での GOS 群 vs プラセボ群における表記であり，Mann-Whitney U test で解析を行った．

【考察】本研究において2型糖尿病患者のLBPは健常人のそれと比較して高値であったが，これは日本人2型糖尿病患者を対象とした観察研究の結果（Sato *et al.*, 2014）に矛盾しないものであった．また欧州の2型糖尿病患者のLPSは健常人のそれと比較し高値であったことが報告されているが（Creely *et al.*, 2007）本研究では試験参加者全てにおいてLPSは検出感度以下であった．日本人2型糖尿病患者の血中LPS濃度は欧米人のそれと比較して比較的low値である可能性が考えられた．また2型糖尿病患者では健常人と比較して

Bifidobacteriaceae が減少していたが、これは既報の結果と一致するものであった (Wu *et al.*, 2010). また本研究では 4 週間の GOS 負荷は 2 型糖尿病患者の減少した *Bifidobacteriaceae* を回復させたが、2 型糖尿病患者の耐糖能改善効果は示さなかった. プレバイオティクス的一种であるイヌリンを 2 型糖尿病患者に 2 ヶ月間負荷したところ耐糖能の改善を認めたという報告 (Pourghassem Gargari *et al.*, 2013) や、オリゴ糖の一種であるフルクトオリゴ糖を豊富に含んだイヌリンを 2 型糖尿病患者に 8 週間飲用させたところ耐糖能の改善を認めたという報告もある (Dehghan *et al.*, 2014) ことから、本研究における 4 週間という GOS 負荷期間は耐糖能の改善効果発現には短すぎた可能性が考えられた.

本研究により、GOS が健常人のみでなく 2 型糖尿病患者においても *Bifidobacteriaceae* を増殖させ腸内環境を整える効果を持つことが確認された. GOS の継続飲用は 2 型糖尿病の新たな治療選択肢になりうると考えられた.

【キーワード】2 型糖尿病, *Bifidobacteriaceae*, ガラクトオリゴ糖

引用文献

Creely, S. J., McTernan, P. G., Kusminski, C. M., Fisher, f. M., Da Silva, N. F., Khanolkar, M., Evans, M., Harte, A. L. and Kumar, S. (2007), Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes, *Am J Physiol Renal Physiol* 292, E740-E747.

Dehghan, P., Pourghassem Gargari, B. and Asghari Jafar-abadi, M. (2014), Oligofructose-enriched inulin improves some inflammatory markers and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial, *Nutrition* 30, 418-423.

Gibson G. and Roberfroid M. (1995), Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics, *J Nutr* 125, 1401-1412.

Gibson G., Probert H., Loo J., Rastall R. and Roberfroid M. (2004), Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics, *Nutr Res Rev* 17, 259-275.

Griffiths, E. A., Duffy, L. C., Schanbacher, F. L., Qiao, H., Dryja, D., Leavens, A., Rossman, J., Rich, G., Dirienzo, D. and Ogra, P. L. (2004), In vivo effects of bifidobacteria and lactoferrin on gut endotoxin concentration and mucosal immunity in Balb/c mice, *Dig Dis Sci* 49, 579-589.

LE, T. K., Hosaka, T., LE, T. T., Nguyen, T. G., Tran, Q. B., LE, T. H. and Pham, X. D. (2014), Oral administration of Bifidobacterium spp. improves insulin resistance, induces adiponectin, and prevents inflammatory adipokine expressions, *Biomed Res* 35, 303-310.

Pourghassem Gargari, B., Dehghan, P., Aliasgharzadeh, A. and Asghari Jafar-Abadi, M. (2013), Effects of high performance inulin supplementation on glycemic control and antioxidant status in women with type 2 diabetes, *Diabetes Metab J* 37, 140-148.

Sato, J., Kanazawa, A., Ikeda, F., Yoshihara, T., Goto, H., Abe, H., Komiya, K., Kawaguchi, M., Shimizu, T., Ogihara, T., Tamura, Y., Sakurai, Y., Yamamoto, R., Mita, T., Fujitani, Y., Fukuda, H., Nomoto, K., Takahashi, T., Asahara, T., Hirose, T., Nagata, S., Yamashiro, Y. and Watada, H. (2014), Gut dysbiosis and detection of ‘live gut bacteria’ in blood of Japanese patients with type 2 diabetes, *Diabetes Care* 37, 2343–2350.

Wu, X., Ma, C., Han, L., Nawaz, M., Gao, F., Zhang, X., Yu, P., Zhao, C., Li, L., Zhou, A., Wang, J., Moore, J.E., Millar, B.C. and Xu, J. (2010), Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes, *Curr Microbiol* 61, 69–78.

論文目録

I 主論文

Galacto-oligosaccharides ameliorate dysbiotic *Bifidobacteriaceae* decline in Japanese patients with type 2 diabetes

Gonai, M., Shigehisa, A., Kigawa, I., Kurasaki, K., Chonan, O., Yoshida, Y., Aida, M., Hamano, K. and Terauchi, Y. *Beneficial Microbes* Vol 8, issue 5: 705-716, 2017.

II 副論文

なし